

(19)日本国特許庁 (J P)

(12)公開特許公報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開平7-258100

(43)公開日 平成7年 (1995) 10月9日

(51)Int.Cl. <sup>6</sup>	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
A 6 1 K 35/78		C 8217-4C	A 6 1 K 37/20	A D U
31/715	A D U	-		

審査請求 未請求 請求項の数2 書面 (全 4 頁)

(21)出願番号 特願平6-94047

(22)出願日 平成6年 (1994) 3月24日

(71)出願人 593178122

道岡 攻

仙台市青葉区台原3丁目5番16号

(71)出願人 594075167

永井 いつ

鹿児島県鹿児島市新屋敷町16番717号

(72)発明者 道岡 攻

宮城県仙台市青葉区台原三丁目5番16号

(72)発明者 永井 いつ

鹿児島県鹿児島市新屋敷町16番717号

(54)【発明の名称】 サツマイモに分布するガン細胞の増殖抑制および分化を促進することで抗がん作用を示す糖脂質およびその精製方法

(57)【要約】

【目的】 サツマイモの葉・莖・茎および地下茎の全ての部位からガン細胞の増殖抑制および分化を促進する糖脂質を精製して抗ガン剤およびガン予防を目的とした食品・飲料品の原料とする。

【構成】 サツマイモの葉・莖・茎は乾燥したのち粉末化して熱湯煮沸またはメタノール、クロロホルムおよび水の混合液中でホモジナイズあるいは超音波抽出し、二相分配法で糖脂質を分離したのち、シリカゲルカラムクロマトグラフィー法によって精製される2つの画分はガン細胞の増殖抑制およびガン細胞の分化を促進することに由来する抗ガン物質を精製する。可食部はそのまま、あるいは澱粉抽出後の澱粉粕からは上記抽出法で水に抽出し、また、洗浄液はそのままイオン交換樹脂等に付着させこれより上記精製法で精製される。さらに、薄断して天日で乾燥し、粉末状にしたのち水蒸気等で抽出してから精製あるいはそれを原料として抗ガン性食品として利用できる。

## 【特許請求の範囲】

【請求項1】 サツマイモの葉・莖・茎および可食部を含む地下茎を乾燥あるいは生のままで熱湯および水蒸気で抽出あるいは水または有機溶剤で超音波またはホモジナイズして抽出し、糖脂質を精製し、カラムクロマトグラフィー・薄層クロマトグラフィーを用いて作用物質を単離・精製する方法

【請求項2】 請求項1記載の方法で抽出・精製された抗ガン性糖脂質

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

【産業上の利用分野】本発明はサツマイモの可食部および葉・莖・茎など全てに部分から、薬効を有する糖脂質を抽出して抗ガン剤およびガン予防効果を有する飲食物として提供できるものである。

## 【0002】

【従来の技術】サツマイモの地下茎は掘り出して乾燥したのち焼却され、また、地上部は耕作地に敷き込み、腐敗させて堆肥として使用されるか、そのまま耕作地脇で腐敗して大地へ還元されている。その他に家畜の餌として1部が使用される。

【0003】サツマイモの可食部は生産量の約75%が青果類として諸供養され、約25%にあたる約30万トンには澱粉製造の原料として用いられる。この場合、固形成分は澱粉粕として1部はシュウ酸原料、1部は家畜の餌として用いられているが大部分は産業廃棄物として廃棄されている。また、可溶成分は澱粉精製の洗浄水とともに廃液として流されている。

## 【0004】

【発明が解決しようとする課題】サツマイモは可食部だけでなく葉や茎にも抗ガン性糖脂質が分布することを、1993年10月に日本癌学会で発明者の一人により報告した。一方、サツマイモを青果類として食べるのでは人体を培養系として試算した場合、毎日3キログラムを約1ヶ月半食べ続けて有効量に達する。しかし、サツマイモをこの量摂取することは蛋白質欠乏症をはじめ、種々の栄養障害をもたらす不可能である。

【0005】一方、サツマイモの葉・茎および莖等は産業的および工業的価値が少なく、また、年間30万トンに上る澱粉原料としてのサツマイモはその原料使用量の数倍もの澱粉粕と澱粉廃液を排出している。そしてこれら主に廃棄処分される葉・茎・澱粉粕および澱粉廃液には抗ガン性糖脂質が可食部同様に含まれている。もしこれら廃棄されている部分から抗ガン性糖脂質を取り出すことが出来れば産業的および医学的価値とともに環境保護の面からも有意義なことと考えられる。

## 【0006】

【課題を解決するための手段】葉や茎や莖および澱粉粕は水で洗浄したのち乾燥又はそのままの状態煮沸して水に抽出する。あるいは親水性の比較的強いメタノール

ークロロホルム-蒸留水等の有機混液等と超音波照射又はホモジナイズして抽出する。後者は有機溶媒と水の混合比によつて、糖脂質だけを抽出できる。

【0007】澱粉製造による廃液は陽イオン交換樹脂を通して浮遊物の濾取とともに陽イオン成分を除去し、流出液は引き続き陰イオン交換樹脂を通して陰イオン成分を吸着させる。吸着成分は少量の1M酢酸アンモニウム液で溶出させる。葉・茎・莖および澱粉粕の煮沸抽出液も冷却させたのちイオン交換樹脂を用いて濃縮する。

10 【0008】陰イオン交換樹脂から得た濃縮流出液は脱塩したのちBligh-Dyer分配法等によりガングリオシドの調整を行う。

【0009】得られたガングリオシド粗画分をクロロホルム-メタノール-蒸留水(30:60:8)に溶解してDEAE-Sephadex A-25カラムにかけ、水洗後0.1%酢酸アンモニウム溶液で流出する画分を分取して画分Iとする。さらに0.3%酢酸アンモニウム溶液で洗浄後0.5%酢酸アンモニウム溶液で流出する画分を分取して画分IIとする。

20 【0010】これらの両画分は薄層クロマトグラフィーによる同定で、画分IはG<sub>M3</sub>とG<sub>M4</sub>の間に移動度のある画分で薬効が認められ、画分IIではG<sub>T1b</sub>とG<sub>D1b</sub>との間に移動度のある画分で薬効が認められる。しかし、画分Iは薄層から超音波抽出したのち、画分IIと同一の移動度を示し、画分Iの一部脂質の欠損したものが画分IIの作用物質と考えられる。

【0011】この画分でガン細胞の増殖をほぼ完全に抑える濃度は27μg/mlである。もし、ガン細胞に対する作用物質の親和性が無いと仮定しても体重60kgのガン患者の場合、1.62gを投与するとガンの増殖が抑制され、理想的な抗ガン剤が供給できるものと考えられる。

## 【0012】

【発明の作用】サツマイモのいわゆる青果類として、あるいは澱粉原料、シュウ酸原料としての利用されず現在廃棄処分されている澱粉粕、その廃液および葉・茎・莖といった廃棄物であり、これから効果的な抗ガン剤が供給できればガン治療の一助となる。また、廃棄物処理の面からも望ましい解決法となる。

40 【0013】画分IおよびIIの抗ガン作用はヒト骨髄性白血病HL-60細胞、ヒト子宮頸ガンHeLa細胞およびマウスメラノーマB-16細胞を用いて試験した。

【0014】A. ヒト骨髄性白血病HL-60に対する抗ガン作用: HL-60細胞を10%牛胎仔血清を含んだRPMI-1640培地で細胞数 $1 \times 10^5$ /mlとなるように調整して25ml培養瓶にそれぞれ5mlを分注して炭酸ガス培養器で培養する。翌日、各培養細胞が増殖を始めた時点で画分IおよびIIを25μg、50μg、75μg、100μg、125μgおよび15

0  $\mu$ g/500  $\mu$ l 蒸留水となるように調整して濾過滅菌して培養細胞にそれぞれ500  $\mu$ l を添加して増殖を観察した。なお、滅菌蒸留水500  $\mu$ l を添加した培養細胞の増殖を対照とし、各々の生細胞数を毎日測定して増殖抑制率を検討した。この結果、画分 I I では25  $\mu$ l でも充分の増殖抑制がみられるが、画分 I では投与量によって抑制率がことなり、明らかな量-作用関係が示された。さらに画分 I I 添加の各濃度で死細胞の程度にさがみられず、細胞毒による死滅ではないことが示唆された。

【0015】B. ヒト子宮頸ガン HeLa 細胞に対する抗ガン作用：増殖した HeLa 細胞はトリプシン処理して細胞を分離したのち10%牛胎仔血清を含む Eagle-MEM 培地に細胞数  $4 \times 10^4$  / 5 ml となるように調整して、25 ml 培養瓶にそれぞれ5 ml を分注して培養した。画分 I, I I および対照の処理は細胞が培養瓶壁に付着増殖する3日目に HL-60 と同濃度を添加した。写真1, 2 および3はそれぞれ処理後4日目の顕微鏡写真を示した。写真1は滅菌蒸留水500  $\mu$ l を添加した対照で、写真2の画分 I の150  $\mu$ g/500  $\mu$ l 処理および写真3の画分 I I の25  $\mu$ g/500  $\mu$ l 処理の細胞に比べて小型で、小球状を呈して、かつ細胞の重層などガン細胞特有の形態が観察される。写真2および3では著名な細胞の大型化、扁平上皮細胞への分化を伴う形態変化が観察される。

【0016】C. マウス皮膚ガン(メラノーマ) B-16 細胞に対する抗ガン作用：B-16 細胞に対する抗ガン作用は、HeLa 細胞に対する作用の試験と細胞数、培地および処理方法とも全く同様の試験を行った。写真4から8は処理後7日間培養したのちトリプシン処理し、各処理群とも細胞数を  $4 \times 10^4$  / 5 ml に調整して継代培養した4日目に撮影したものである。写真4は滅菌蒸留水500  $\mu$ l 添加の継代4日目ガン細胞特有の球形小型の重層によるメラニン色素の沈着が観察される。写真5および6はそれぞれ画分 I の150  $\mu$ g/500  $\mu$ l および画分 I I の25  $\mu$ g/500  $\mu$ l を添加した細胞の継代4日目で、共に細胞の紡錘状の大型化が観察される。その作用は HeLa 細胞同様150  $\mu$ g/500  $\mu$ l 処理が強い。また、写真7は HL-60 細胞で著名でなかった25  $\mu$ g/500  $\mu$ l 処理でも量-作用反応に応じた弱い形態変化、細胞分化を示唆するものである。

【0017】B-16 細胞の重層によるメラニン沈着の差は外観的にも写真8に見られるように観察される。

【0018】画分 I および I I の作用は HeLa および B-16 細胞で観察されたように未分化のガン細胞に対する分化促進に由来するものと考えられ、その獲得形質は継代しても失われることなく保存された。また、抗ガン性ガングリオシドとして G<sub>M</sub>3 等が知られるが、これらは無血清培地でのみ有効で血清蛋白質との結合により

ガン細胞への取り込みが阻害されるものと考えられる。この点、サツマイモに分布する作用画分は10%牛胎仔血清を含む培地で有効であり、理想的抗ガン剤として期待できる。

【0019】画分 I は HPTLC-Fretigplatten kieselgel 60 F<sub>254</sub> (MERCK) で展開した時点では淡青色の蛍光を UV ランプ照射で発するが、ソルビネート硫酸試薬でシアル酸は着色しない。薄層より超音波照射した抽出物質はソルビネート硫酸と反応して着色し、同時に移動度は画分 I I と一致する。また、両画分の作用濃度が画分 I I が I のほぼ6倍の強さをもち、有機性の強い展開液で移動度が画分 I が I I に比べて非常に大きく、これらのことは画分 I の長い脂肪鎖がガングリオシドのシアル酸を保護しており、これが薄層からの抽出に際して切断されたことを示唆する。このことは、脂肪滴として小腸での能動吸収を意味するものと考えられる。

【0020】

【実施例1】サツマイモ耕作農家から茎や葉を購入し、茶葉の洗浄器で洗浄したのち1 cm 程度に切り乾燥あるいはお茶同様発酵させて、ティーバック1袋に0.1 g を茶葉とともに入れて、ガン予防効果を備えたお茶として供給する。この場合、1 g は画分 I および I I を上述の投与濃度の25 l に相当する量となる。1日に10袋を飲むと体重60 kg のヒトで62.5  $\mu$ g/500  $\mu$ l の画分 I の投与に相当する。このことは潜在ガンのプロモーターにおける予防効果は充分期待できる。

【0021】

【実施例2】サツマイモを原料とした澱粉製造の洗浄液を陽イオン交換樹脂、続いて陰イオン交換樹脂を通し、陰イオン交換樹脂から0.1 M 酢酸アンモニウム溶液で画分 I を0.3 M 酢酸アンモニウム溶液で画分 I I を溶出して脱塩結晶化し、食品添加物として、あるいは飲料等に添加して供給する。

【0022】

【発明の効果】サツマイモ澱粉製造工業では膨大な量の澱粉粕および製造時の廃液の殆どは産業廃棄物および廃水として捨てられている。これらの浄化には莫大な容積の処理池や処理工場および電力消費料を要するだけでなく悪臭や水質汚染など環境問題を引き起こして要るのが現状である。

【0023】本発明は、サツマイモ耕作および澱粉製造における廃棄されている物から理想的な抗ガン剤およびガン予防飲食品に利用するもので、厄介な廃棄物に付加価値を持たせることができ、その社会的・環境的、かつ経済的效果は甚大である。

【0024】

【写真の簡単な説明】

【写真1】ヒト子宮頸ガン由来の HeLa 細胞(10%牛胎仔血清を含む Eagle-MEM 培地)に培地の

10%蒸留水を加えて4日間培養した時の顕微鏡写真

【写真2】培養HeLa細胞に培地の10%サツマイモ画分I (150 $\mu$ g/500 $\mu$ l 蒸留水に溶解) を加えて4日間培養した時の顕微鏡写真

【写真3】培養HeLa細胞に培地の10%サツマイモ画分II (25 $\mu$ g/500 $\mu$ l 蒸留水に溶解) を加えて4日間培養した時の顕微鏡写真

【写真4】マウスメラノーマ由来のB-16細胞をHeLa細胞と同培地で培養し、培地の10%蒸留水を加えて7日間培養したのち細胞数を揃えて4日間継代培養した顕微鏡写真

【写真5】培養B-16細胞を10%サツマイモ画分I

(150 $\mu$ g/500 $\mu$ l) 処理の継代4日目の顕微鏡写真

【写真6】培養B-16細胞を10%サツマイモ画分I (25 $\mu$ g/500 $\mu$ l) 処理の継代4日目の顕微鏡写真

【写真7】培養B-16細胞を10%サツマイモ画分I (25 $\mu$ g/500 $\mu$ l) 処理の継代4日目の顕微鏡写真

【写真8】培養B-16細胞を10%サツマイモ画分I (25 $\mu$ g/ $\mu$ l) 処理の継代4日目のメラニン色素着色の軽減 (同蒸留水処理と比較して)